Preparación de muestras de ARN monocatenario TruSeq 1

Nombre del curso: Preparación de muestras de ARN monocatenario TruSeq

Página	Narración
01_Bienvenida	Le damos la bienvenida al curso de preparación de muestras de ARN monocatenario TruSeq. Haga clic en Siguiente para continuar.
02_Navegación	Familiarícese con las opciones de navegación de este curso. Puede acceder a estas instrucciones en cualquier momento pulsando el botón de ayuda situado en la esquina superior derecha de la página.
03_Objetivos	Al final de este curso, aprenderá las respuestas a preguntas como las siguientes: - ¿Qué es el protocolo de preparación de muestras de ARNm monocatenario TruSeq? - ¿Qué es el protocolo de preparación de muestras de ARN total monocatenario TruSeq? Haga clic en los vínculos de la parte inferior de la página para descargar las guías de preparación de muestras de ARN monocatenario TruSeq.
04_¿Qué es el protocolo de preparación de muestras de ARNm monocatenario TruSeq?	El primer paso del protocolo de preparación de muestras de ARNm monocatenario TruSeq implica purificar las moléculas de ARNm que contienen colas poli-A con bolas magnéticas poli-T con unión de oligonucleótidos. Tras la purificación, el ARNm se fragmenta en trozos pequeños por medio de cationes divalentes a temperatura elevada, lo que garantiza una buena cobertura del transcriptoma. Los fragmentos de ARN segmentados se copian en el ADNc de la primera cadena utilizando transcriptasa inversa y cebadores aleatorios. La especificidad de cadena de las muestras se logra al sustituir dTTP por dUTP en el segundo proceso de síntesis de cadenas, que interrumpe la amplificación subsiguiente de esta cadena, ya que la polimerasa utilizada en el ensayo no se incorpora más allá de este nucleótido. El producto final de este paso son moléculas de ADNc de doble cadena con extremos romos. La adición de una base A a los extremos de las cadenas de ADNc impide que los fragmentos de extremos romos se liguen entre sí durante la reacción de ligadura de adaptadores.

Página	Narración
	A continuación tiene lugar una reacción de ligadura, por la cual se ligan varios adaptadores de indexación a los extremos de los fragmentos de ADN, preparándolos para la hibridación en una celda de flujo. A continuación, los productos se purifican y se enriquecen con PCR para crear la biblioteca final de ADNc.
05_¿Qué es el protocolo de preparación de muestras de ARN total monocatenario?	El primer paso del protocolo de preparación de muestras de ARN total monocatenario TruSeq es la eliminación del ARN ribosómico del ARN total extraído de tejidos frescos o conservados en formol-parafina. Después del proceso de eliminación, el ARN restante se purifica y se fragmenta en trozos pequeños por medio de cationes divalentes a temperatura elevada, lo que garantiza una buena cobertura del transcriptoma. Los fragmentos de ARN segmentados se copian en el ADNc de la primera cadena utilizando transcriptasa inversa y cebadores aleatorios. La especificidad de cadena de las muestras se logra al sustituir dTTP por dUTP en el segundo proceso de síntesis de cadenas, que interrumpe la amplificación subsiguiente de esta cadena, ya que la polimerasa utilizada en el ensayo no se incorpora más allá de este nucleótido. El producto final de este paso son moléculas de ADNc de doble cadena con extremos romos. La adición de una base A a los extremos de las cadenas de ADNc impide que los fragmentos de extremos romos se liguen entre sí durante la reacción de ligadura de adaptadores. A continuación tiene lugar una reacción de ligadura, por la cual se ligan varios adaptadores de indexación a los extremos de los fragmentos de ADN, preparándolos para la hibridación en una celda de flujo. A continuación, los productos se purifican y se enriquecen con PCR para crear la biblioteca final de ADNc.
06_¿Qué kit debería utilizar?	Illumina ofrece diversas configuraciones de kits. La elección del kit depende del tipo de molécula de ARN que le interese estudiar, así como del número de muestras que vaya a procesar. El kit de preparación de muestras de ARNm monocatenario TruSeq de Illumina ha sido concebido para estudios que se centran en moléculas de ARNm poliadeniladas. Requiere utilizar volúmenes de entrada de ARN de alta calidad. El kit de preparación de muestras de ARN total monocatenario TruSeq de Illumina aísla todo el ARN no ribosómico, incluidos el ARNm y el ARN no codificante, de tejidos frescos o conservados en formol-parafina de ratones, ratas o humanos. Existen dos subcategorías de kits de preparación de muestras de ARN total: Ribo-Zero y Ribo-Zero Gold. El kit Ribo-Zero Gold cuenta con la característica adicional de eliminación del ARN ribosómico mitocondrial.

Página	Narración
	Todos los kits se comercializan en dos configuraciones de tamaño distintas: de alto rendimiento (HT) y de bajo rendimiento (LT). Los kits LT incluyen reactivos suficientes para preparar 48 muestras con 12 índices únicos. Índices HT. Los kits HT incluyen reactivos suficientes para preparar 96 muestras con 96 índices únicos.
07_¿Cuáles son las opciones?	Illumina ofrece dos protocolos diferentes, según el número de muestras que sea necesario procesar. Repase las tablas de esta diapositiva para determinar cuál de los protocolos es el más adecuado para su experimento. Tenga en cuenta que el protocolo utilizado es independiente del kit que adquiera. Por ejemplo, puede comprar un kit de alto rendimiento (HT) y utilizarlo con el protocolo de bajo número de muestras (LS).
08_¿Qué hace falta para completar el protocolo de preparación de muestras LT de ARNm monocatenario TruSeq?	Con el fin de completar el protocolo de preparación de muestras de bajo rendimiento (LT) de ARNm monocatenario TruSeq, se requieren varios elementos, como: • El Manual del usuario, que incluye los protocolos de alto y bajo número de muestras. • Los distintos kits para completar los protocolos. • Otros materiales proporcionados por el usuario, que se recogen en la Guía del usuario. Haga clic en cada elemento para obtener información adicional.
09_¿Qué hace falta para completar el protocolo de preparación de muestras HT de ARNm monocatenario TruSeq?	Con el fin de completar el protocolo de preparación de muestras de alto rendimiento (HT) de ARNm monocatenario TruSeq, se requieren varios elementos, como: • El Manual del usuario, que incluye los protocolos de alto y bajo número de muestras. • Los distintos kits para completar los protocolos. • Otros materiales proporcionados por el usuario, que se recogen en la Guía del usuario. Haga clic en cada elemento para obtener información adicional.
10_¿Qué hace falta para completar el protocolo de preparación de muestras LT de ARN total monocatenario TruSeq?	Con el fin de completar el protocolo de preparación de muestras de bajo rendimiento (LT) de ARN total monocatenario TruSeq, se requieren varios elementos, como: • El Manual del usuario, que incluye los protocolos de alto y bajo número de muestras. • Los distintos kits para completar los protocolos. • Otros materiales proporcionados por el usuario, que se recogen en la Guía del usuario. Haga clic en cada elemento para obtener información adicional.

Página	Narración
11_¿Qué hace falta para completar el protocolo de preparación de muestras HT de ARN total monocatenario TruSeq?	Con el fin de completar el protocolo de preparación de muestras de alto rendimiento (HT) de ARN total monocatenario TruSeq, se requieren varios elementos, como: • El Manual del usuario, que incluye los protocolos de alto y bajo número de muestras. • Los distintos kits para completar los protocolos. • Otros materiales proporcionados por el usuario, que se recogen en la Guía del usuario. Haga clic en cada elemento para obtener información adicional.
12_Flujo de trabajo de preparación de ARNm monocatenario TruSeq	Aquí vemos el flujo de trabajo de preparación de muestras de ARNm monocatenario TruSeq. Haga clic en cada paso para obtener información adicional sobre él, incluida la siguiente: Funcionamiento de cada paso y prácticas recomendadas directamente asociadas a cada paso.
13_Flujo de trabajo de preparación de ARN total monocatenario TruSeq	Aquí vemos el flujo de trabajo de preparación de muestras de ARN total monocatenario TruSeq. Haga clic en cada paso para obtener información adicional sobre él, incluida la siguiente: Funcionamiento de cada paso y prácticas recomendadas directamente asociadas a cada paso.
14_Resumen	Ahora debería conocer las respuestas a preguntas como las siguientes: • ¿Qué es el protocolo de preparación de muestras de ARNm monocatenario TruSeq? • ¿Qué es el protocolo de preparación de muestras de ARN total monocatenario TruSeq? Haga clic en los vínculos de la parte inferior de la página para descargar las guías de preparación de muestras de ARN monocatenario TruSeq.
15_Finalización de la lección	Enhorabuena. Ha finalizado este curso. Si desea obtener más información sobre la preparación de muestras de ARN monocatenario TruSeq, visite la página de asistencia de kits y reactivos.